

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

Detección de anticuerpos contra *Lawsonia Inttacellularis*  
en porcinos provenientes de granjas porcinas tecnificadas  
del valle de Lima y Huaral

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

María Alodia VALDÉZ CARPIO

**ASESOR**

Sonia Yenny CALLE ESPINOZA

Lima - Perú

2001

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS**

Por guiar mi camino.

### **A MIS PADRES**

#### **MARIA ELENA Y GUALBERTO**

POR DEJARME TOMAR MIS  
DECISIONES, A ELLOS DEBO  
MI PROFESIÓN Y LO QUE SOY.

### **A MIS MASCOTAS**

TODAS LAS QUE SALIERON  
EN MI CAMINO LAS QUE  
SON MI INSPIRACIÓN.

**AL LAB. DE BACTERIOLOGIA**

**Dr. SONIA CALLE Y Dr. MARIA CERON**

**POR SU APOYO SIN EL CUAL ESTA TESIS**

**NO SE HUBIERA REALIZADO.**

**AL LAB. DE VIROLOGIA**

**Dr. HERMELINDA RIVERA Y RICARDO.**

**AL Dr. NESTOR FALCON**

**POR SU INVALUABLE AYUDA Y PACIENCIA**

**A MIS AMIGOS**

**Ricardo G., Chio, María C., Daniel B.**

**POR SU AYUDA, SU TIEMPO Y POR SER COMO SON.**

**UN ESPECIAL AGRADECIMIENTO A**

**ELANCO**

**POR SU IMPORTANTE APOORTE PARA EL  
DESARROLLO DE LA INDUSTRIA  
PORCINA.**

## CONTENIDO

	Página
- Lista de cuadros	ii
- Lista de figuras	iii
- Resumen	iv
- Summary	v
- I Introducción	1
- II Revisión bibliográfica	
2.1 Antecedentes históricos	3
2.2 Características de la bacteria	4
2.3 Hospederos	4
2.4 Manifestaciones Clínicas	5
2.5 Patogenia	6
2.6 Lesiones	8
2.7 Respuesta inmune	11
2.8 Epidemiología	11
2.9 Diagnóstico	13
2.10 Tratamiento	14
2.11 E.P.P y los promotores de crecimiento	15
2.12 Control	15
- III Materiales y métodos	17
- IV Resultados	24
- VI Discusión	25
- VII Conclusión	28
- VIII Apéndice	29
- IX Bibliografía citada	30

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.- Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* obtenidas según zonas de muestreo.

Cuadro 2.- Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* obtenidas según grupo etario.

Cuadro 3.- Evaluación de la edad como factor de riesgo en la presentación de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*

Cuadro 4.- Evaluación de localización como factor de riesgo en la presentación de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.- Muestra con reacción positiva a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*

Figura 2.- Muestra con reacción negativa a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo detectar la presencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*, causante de enteropatía proliferativa porcina, en cerdos provenientes de granjas porcinas tecnificadas del valle de Lima y Huaral. Los anticuerpos fueron detectados mediante la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) en muestras de suero de 197 cerdos procedentes de granjas ubicadas en Lurín, Huaral y Cieneguilla, tomándose 2 granjas de cada zona y dividiéndolas la población en destetados, engorde y hembras de reemplazo. El 38.7% (73/197) de los sueros analizados presentaron anticuerpos contra la bacteria. Por zonas se obtuvo 18.96% animales positivos en Huaral, 44.3% en Cieneguilla y 45.5% en Lurín. En destete, engorde y hembras de reemplazo se encontró 24.6%, 47.6% y 44.7% respectivamente. La presencia de anticuerpos evidencia la exposición de los animales a la bacteria, ello nos lleva a reconocer a la bacteria *Lawsonia intracellularis* como un nuevo posible agente etiológico de diarreas que afecta la industria porcina de nuestro país.

**Palabras Clave:** Enteropatía Porcina Proliferativa, *Lawsonia intracellularis*, Anticuerpos, porcinos, inmunofluorescencia.



## SUMMARY

Tests Antibodies against *Lawsonia intracellularis*, the causative agent of Porcine Proliferative Enteropathies (PPE), were conducted normal pigs (n=197) from managed pig farm from Lima valley. Indirect Immunofluorescence test. The seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* was 38,7% (73/197). The higher prevalence was found in Lurin 45.5 % , followed by Cieneguilla (44.3%) and Huaral (18.96). The 24.6% of pig at postweaning, 47.6% of growing pigs and 44.7% of gilts had antibodies against the bacteria. The results of the study indicate that the *Lawsonia intracellularis* is widely distributed in pig population of Lima Valley and may be involved in diarrhea presentation in the farm studies

**KEY WORDS:** Porcine Proliferative Enteropathies (PPE), *Lawsonia intracellularis*, antibodies, pigs, immunofluorescences.

## I INTRODUCCIÓN

En 1995 la carne de porcino registró una producción anual de 80,100 TM, alcanzando en 1999 la cifra de 93,208 TM, según consta en boletines del ministerio de Agricultura. Estos datos nos permiten evidenciar la importancia de la producción porcina en la economía de nuestro país (MINAG-OIA 1995; 1999).

El consumo promedio de carne de porcino fue de 3.64 Kg. por persona en el año 1995 y de 3.65 Kg. en 1999. La demanda de carnes se rige normalmente por el precio, encontrándose en primer lugar la carne de ave, en segundo lugar la carne de porcino y en un tercer lugar la carne de res. La carne de porcino se presenta como alternativa económica y de alto valor proteico con gran aceptación por el consumidor (APP 2000; Kalinowski 1996).

En la industria porcina uno de los principales costos es la alimentación, la cual corresponde un 70% de los costos. La importante inversión realizada en la alimentación es constantemente mellada por problemas de manejo y problemas sanitarios que afectan el rendimiento de los animales. Dentro de los problemas sanitarios, las diarreas son la principal y más frecuente entidad patológica que afecta la porcicultura, causada por una gran variedad de agentes bacterianos, virales, parasitarios, así como factores medioambientales y alimenticios que merman la eficiencia productiva (Moxley y Duhamel 1999).

Las diarreas bacterianas son causantes de grandes pérdidas en la industria porcina en el Perú y el mundo, no sólo debido a la mortalidad y gastos en tratamientos, sino también por la disminución en el aprovechamiento del alimento y el retraso en el tiempo de beneficio. Existe una amplia gama de agentes bacterianos que ocasionan diarreas, entre ellos tenemos a la *Escherichia coli* como la más importante. Estudios

recientes han determinado que *Lawsonia intracelullaris* es un agente de gran importancia debido a las diarreas inaparentes y persistentes que origina y a la baja en el rendimiento productivo.

El estudio de esta bacteria se inició en 1993 (Gebhart y col. 1993), pero las lesiones que produce se conocen desde mucho tiempo antes (Biester y Schwarte 1931), las que fueron atribuidas a otros agentes bacterianos como el *Camphylobacter spp.* Finalmente se llegó a definir como agente causal a la bacteria *Lawsonia intracellularis* en 1995 logrando su aislamiento sólo en cultivos celulares de enterocitos de rata (McOrist y col. 1995).

Países como Australia, Bélgica, Canadá, Dinamarca, Estados Unidos, Reino Unido y otros se reporta la presencia de esta enfermedad, en Sudamérica existen dos estudios; uno realizado en Brasil y otro en Venezuela en los que se demostró la presencia de la enfermedad en proporciones importantes, 34,4 y 33,8% respectivamente (Chiriboga y col 1999; Hurtado y col. 1999).

En nuestro país los productores porcinos sospechan de la existencia de esta enfermedad por la presentación de diarreas con sangre, no teniendo en cuenta las diarreas constantes y la anorexia que la enfermedad ocasiona. Es objetivo del presente estudio demostrar la presencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* en granjas porcinas tecnificadas del valle de Lima y Huaral mediante la prueba de Inmunofluorescencia indirecta, iniciando así el estudio de esta enfermedad en nuestro país.

## II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

El primer reporte de Enteritis Proliferativa Porcina (EPP) producida por *Lawsonia intracellularis* fue realizado por Biester y Schwarte en Ames - Iowa en 1931, en este reporte se le describe como lesiones proliferativas. En el Reino Unido se realizaron investigaciones mayores, en las que se encontraron gran cantidad de casos con lesiones similares a las antes reportadas; para el estudio se realizaron cortes histológicos e impregnaciones argénticas, encontrándose gran afinidad entre el hallazgo de lesiones proliferativas y la presencia de bacterias intracelulares (Lawson y Rowlan 1974)

Inicialmente se creía que el agente causal era *Campylobacter sputorum* sub especie *mucosalis* de localización intracelular, aislada con relativa facilidad de las lesiones proliferativas, pero este no fue capaz de reproducir la enfermedad ni las lesiones (Rowland y Lawson 1974; Gebhart y col. 1991). Con el análisis del ADN de la bacteria purificada directamente de la mucosa intestinal afectada quedó demostrado que el organismo no tenía relación genética con las especies de *Campylobacter* (Gebhart y col. 1990). Al realizarse el análisis secuencial y la caracterización morfológica, se estableció para este microorganismo un nuevo género y especie, nombrándolo *Ileal symbiont intracellularis* (Gebhart y col. 1993)

La identificación de esta bacteria y su relación etiológica con la enteritis proliferativa fue finalmente resuelta en 1993, mediante cultivos celulares (Lawson y col. 1993). En octubre de 1995 se le designó como *Lawsonia intracellularis* en honor a

Gordon Lawson investigador de la Facultad de Veterinaria de Edimburgo y responsable del grupo investigador (McOrist y col. 1995).

## 2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA BACTERIA

El agente causal de esta enfermedad, es la bacteria *Lawsonia intracellularis*; pertenece a la familia *Desulfovibrionaceae*, por su estrecha relación filogenética con *Desulfovibrio desulfuricans*, bacteria comensal habitual en el intestino de los mamíferos, pertenece a la clase *Proteobacteria* (Gebhart y col. 1993; McOrist y col. 1993). Es un bacillo Gram (-), ácido resistente, no esporulado, libre de flagelos, inmóvil y no degrada el sulfato. Presenta forma curva, puede ser pleomórfica en cultivo en vitro o tomar forma sigmoidea, mide 1,25 – 1,75  $\mu\text{m}$  de largo y 0,25 – 0,43  $\mu\text{m}$  de diámetro (Gebhart y col. 1993).

No desarrolla en medios comunes, se han probado 80 medios diferentes. El microorganismo se multiplica por división binaria, sin tener que incluirse en una vacuola, hecho observado en el citoplasma de células intestinales de rata (células IEC-18=ATCC CRL1589). Esta bacteria requiere la presencia de 5 – 15% de  $\text{O}_2$ , 8.8%  $\text{CO}_2$  y 37 °C (Lawson y col. 1993). Se han aislado alrededor de 10 cepas diferentes en Australia, Europa y Estados Unidos, se conoce la cepa LR 198/5/83.1 aislada de enterocito de rata obtenida originalmente de cerdos con lesiones intestinales en Gran Bretaña y la cepa 916/91 (NTCT 12656) capaces de reproducir la enfermedad en cerdos (Knittel y col. 1996). Se ha encontrado escasa variabilidad entre las distintas cepas de esta bacteria (Lawson y col. 1993; Joens y col. 1997)

## 2.3 HOSPEDEROS

La EPP ha sido descrita ocasionalmente en carnívoros, tales como el zorro (Eriksen y Landesberk 1985), hurones (Fox y Lawson 1988), hamsters (Frisk y Wagner 1977), ratas (Vanderbergher y col. 1985). También en herbívoros, tales como el caballo (Duhamel y Wheeldon 1982; Williams y col. 1996), conejos y ciervos (Drolet y col. 1996) y en aves corredoras, como el emú y el avestruz (Cooper 1996). En todas estas especies, ha sido hallada una bacteria intracelular muy similar a *Lawsonia intracellularis*, pero no se ha comprobado si es la misma que se encuentra en las lesiones proliferativas de la mucosa intestinal de los cerdos. Estudios experimentales realizados con inmunocoloraciones in situ, y análisis de ADN sugieren que este agente puede ser capaz de infectar células intestinales de una amplia variedad de especies.

Se ha confirmado de manera experimental la transmisión del porcino al hamster (Gebhart y col. 1994).

## 2.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las formas de presentación de la E.P.P que se han reportado son: E. P. sub-clínica. E. P. no hemorrágica y E. P. hemorrágica. Las tres formas pueden afectar a cerdos de diferentes edades, desde lechones de 3 a 4 semanas a reproductores adultos, aunque es mas común observar las dos primeras formas en lechones destetados o al comienzo del engorde y la forma hemorrágica aguda en la fase final del engorde o en reproductores (Ward y Winkelman 1990). Un factor importante también es el estrés, además se asocia la enfermedad con cambios drásticos de temperatura, particularmente en diferencias extremas del día a la noche, calor y clima húmedo (McOrist y Gebhart 1996)

La forma E. P sub-clínica se presenta comúnmente en post destete y en primeras fases de crecimiento, es típico en cerdos de 20 a 50 kilogramos (Lawson y Rowland 1992). El único síntoma clásico de esta forma de *enteropatía proliferativa* que puede observarse en algunas ocasiones es una anorexia leve que se caracteriza por disminución de la ganancia media diaria y se aprecia mayor desigualdad en lotes de animales, con aumento del número de cerdos retrasados en el engorde, se debe tener cuidado en las inspecciones de los registros diarios. Esta forma de enfermedad es la mas común en las granjas en las que la E.P. es enzoótica (Rowland y Lawson 1992; Gebhart y col. 1994).

La forma de presentación no hemorrágica es frecuente en cerdos post destete en edades de 6 a 24 semanas (Holyoake y col. 1994). La diarrea afecta de un 10 al 50% de la piara; la presentación no hemorrágica de la enfermedad muestra signos patológicos marcados, mayormente en los 50 cm finales del intestino delgado y en el tercio proximal del colon, la magnitud de la proliferación varía ampliamente, presentándose paredes visiblemente dañadas y un incremento en el diámetro. Hay presencia de heces blandas o pastosas. La mayor parte de los porcinos afectados muestran temperatura normal pero en algunas ocasiones se presentarse elevada; pudiendo volverse intermitente debido a la necrosis del ileon y persistir por 4 a más semanas (Roberts y col. 1979; Gogolewski y col. 1991).

Rara vez se presenta la diarrea con sangre y restos necróticos, asociándose con agentes bacterianos secundarios. Las diarreas pueden llevar al animal a la deshidratación, muchos no lo notifican o lo atribuyen a otras causas como las

nutricionales, existen casos que curan espontáneamente. Al avanzar el proceso la anorexia puede ser marcada y la consistencia de las heces va disminuyendo hasta ser claramente diarreicas, la muerte no es común en este tipo de presentación, cuando ocurre esta asociado comúnmente con perforación de las paredes del ileon hipertrofiado, lo que lleva a una peritonitis terminal. Esta forma de la enfermedad aparece descrita en muchas publicaciones como enteritis necrótica (Gebhard y col. 1993).

La mayoría de los animales se recupera de 6 a 8 semanas después de presentados los síntomas y del 1 al 20% permanecen con secuelas severas. El 15% o más de los animales afectados no llegan al peso de mercado a tiempo (Lawson y Rowland 1992). Los animales afectados con esta forma de la enfermedad presentan hipoproteinemia, neutrofilia y marcada desviación a la izquierda (más del 50% de células abastionadas); se observan cerdos y carcasas pálidas, animales deprimidos y anémicos, puede ocasionar abortos una vez iniciados los signos clínicos (Beers 1984).

Los casos E.P. hemorrágico agudo se presenta mayormente en rebaños adultos, animales con peso pre mercado y rebaño joven de reemplazo (de 4 a 18 meses) en general animales mayores de 50 Kg. a 102 Kg. pero puede ocurrir a cualquier edad (Winkelman 1996). Rebaños de alto nivel sanitario son los más afectados (Beers 1984); los porcinos presentan temperatura alta y diarrea con sangre digerida, la mortalidad es baja de 1-6%, la morbilidad media es del 6 % , si bien puede alcanzar hasta el 15% es probable que la mitad de los animales con signos agudos mueran, sobre todo las cerdas de reposición aún no cubiertas y las primerizas (Gebhart y col. 1994; Holyoake y col. 1994; Taylor 1989). Las muertes aparecen en forma repentina generalmente a las 48 hrs de presentados los primeros signos, normalmente mueren varios cerdos. Algunas de las cerdas clínicamente afectadas abortan, esto se produce habitualmente a los 6 días posteriores a los síntomas clínicos (Schultz 1995).

La forma hemorrágica aguda de la E.P.P. con frecuencia se manifiesta en granjas libres cuando llegan cerdas primerizas desde una granja infectada, es la forma más común de presentación de la E.P.P. en granjas con mejor situación sanitaria respecto a otras enfermedades (Gebhart y col. 1994)

## **2.5 PATOGENIA**

Se le a designado a esta enfermedad de diferentes maneras dependiendo de los signos que estén presentes, ellos son Adenomatosis intestinal porcina, ileitis

terminal, enteritis regional, enteritis necrótica, enteropatía hemorrágica proliferativa regional y la más correcta que es la enteropatía proliferativa porcina (EPP) (Lawson y Rowland 1992; Wass 1986).

La E.P.P. se caracteriza por la hiperplasia adenomatosa de los enterocitos de la cripta en el ileon y colon asociado con un bacilo intracitoplasmático sin membrana (Rowland y Lawson 1992). La vía de infección es fecal-oral; los datos obtenidos de las infecciones in vitro apoyan la idea que tras producirse la infección inicial, su difusión posterior es producida sólo por división de las células ya infectadas y no por bacterias libres en el sobrenadante del cultivo (Maporther y col. 1987; McOrist y Lawson 1989a; McOrist y col. 1993).

Cuando se observan los síntomas clínicos, el organismo está presente en las heces de los animales afectados, habiéndose detectado excreciones de la bacteria en animales en fase sub clínica (McOrist y Lawson 1989b). La excreción de *Lawsonia intracellularis* puede persistir por 10 semanas y se han encontrado  $10^8$  unidades de *Lawsonia intracellularis* por gramo de heces, siendo esta dosis infectiva para otros cerdos. La inoculación de dosis entre  $10^5 - 10^6$  unidades de bacterias en cerdos convencionales reprodujo la enfermedad. La bacteria puede vivir por 1-2 semanas fuera de la célula hospedera a temperaturas bajas hasta de 5 °C. La flora intestinal del cerdo juega un papel determinante para que el agente etiológico tenga éxito al colonizar al hospedador; y no se ha logrado reproducir el cuadro clínico en cerdo gnotobióticos, pero sí en cerdos con flora intestinal mínima de bacterias inocuas (*Bacteroides vulgatus* y *E.coli*). El tipo de bacteria exacta que forma esta flora no parece ser crucial, ya que diferentes bacterias anaerobias se han usado con éxito en infecciones experimentales, quizás debido al nivel de potencial Redox adecuado, pH y tensión de  $O_2$  (Smith 1997; McOrist y col. 1994a; Smith y Mc Orist 1997).

La bacteria penetra a los 5 a 7 días después la infección en el enterocito, por un fenómeno inicial de adhesión a las microvelocidades del borde en cepillo, luego mediante un mecanismo de endocitosis forma una vacuola, esto sucede en 3 horas y la bacteria se multiplica libre (sin membrana) en el citoplasma (McOrist y col. 1993; Jasni y col. 1994). El ingreso de la bacteria a la célula depende más de la célula que de la viabilidad de la bacteria, se demostró que el enfriamiento de cultivos de enterocitos disminuye la penetración, mientras que bacterias lesionadas por diversos procedimientos se adhieren y penetran igualmente en el enterocito (Lawson y col. 1995; McOrist y Lawson 1989b; Lawson y col. 1995). El mecanismo por el cual las *Lawsonia intracellularis* causa las lesiones hiperplásicas y no permite la maduración de células en mitosis en las criptas, aún no es conocido.



Los primeros cambios histológicos son evidentes entre los 8 a 10 días de exposición y las lesiones más graves se observan a los 21 días, lo que indica una incubación relativamente larga de alrededor de 2 a 3 semanas (Maporther y col. 1987). La infección incluye una proliferación anormal de los enterocitos en las criptas, en las que se observa numerosas mitosis y acumulación de estas células. Estos enterocitos poseen microvellosidades y estructuras enzimáticas inmaduras. La falta de maduración de los enterocitos puede conllevar a la falta de hormonas autocrinas que inhiben fisiológicamente la proliferación de las células de la cripta, lo que favorecería el progreso de la lesión. La proliferación de enterocitos inmaduros causa una hiperplasia de las criptas evidente en 10 a 14 días de la infección. A medida que progresa la mucosa intestinal normal, es sustituida por mucosa adenomatosa, las criptas afectadas están alargadas y ramificadas y hay una baja notable de células caliciformes que puede llegar a su desaparición total (McOrist y col. 1992; McOrist y col. 1993).

Hay pérdida de proteínas y bloqueo de la absorción a causa de la mucosa engrosada, esta puede ser la razón de la alteración de la absorción de los alimentos. En lesiones tempranas se encuentra ligero incremento de células inflamatorias (McOrist y col. 1992), los cambios inflamatorios llevan a reacciones fibrinosas superficiales extensas, necrosis coagulativa finalizando en lesiones de enteritis necrótica. En lesiones más desarrolladas hay numerosos leucocitos mononucleares en la lámina propia, en especial células CD8 en algunos cerdos hay infiltración substancial de tejido de granulación conduciendo a una infiltración fibrinosa en el tejido y una hipertrofia muscular causando la lesión llamada ileitis regional (Rowland y Lawson 1992).

En la forma aguda encontramos sangrado severo en el lumen intestinal y que a menudo lleva al cerdo a la muerte. La hemorragia no esta asociada a una marcada destrucción tisular ni a la alteración de la mucosa, no se conoce con exactitud su mecanismo patogénico. Es posible que, en algunos animales y en determinadas circunstancias, haya alguna alteración en la formación o en la viabilidad de los vasos sanguíneos de la mucosa (McOrist y col. 1992).

## 2.6 LESIONES

En lesiones menores, el área que se debe examinar son los 10 cm. proximales del ileon. Se debe distinguir lesiones menores de la mucosa contraída sobre las placas de Peyer. Es común observar edema subseroso y mesentérico y el modelo reticular de la subserosa se enfatiza. En la superficie de la mucosa se encuentran puntos de

exudado inflamatorio que se llegan a desprender. Cambios similares en el intestino grueso pueden resultar en una aparente placa o formación polipoide

Histológicamente la mucosa se compone de alargadas criptas lineales ramificadas con células epiteliales inmaduras. Comparando con la histología normal, donde debe presentarse una capa de células, en tejidos afectados se presentan 5 a 10 capas más, el núcleo de las células afectadas se presentan alargados, con forma vesicular y densamente coloreado. Las células caliciformes se encuentran ausentes y su reaparición en la parte profunda de las glándulas indica inminente resolución. En las lesiones recuperadas es notable la reanudación de la apoptosis de células epiteliales con desarrollo de población madura de epitelio y una rápida desaparición de las células adenomatosas de la superficie (McOrist y col. 1996a). El microscopio electrónico nos muestra generalmente un gran número de bacterias sobre la capa apical del citoplasma de las células epiteliales afectadas. En lesiones recuperadas el microorganismo comienza a conglomerarse y puede ser extruido en células degeneradas dentro del lumen o consumida por macrófagos en la lámina propia.

Clásicamente se describen cuatro cuadros de lesiones diferentes Adenomatosis intestinal, Ileitis regional, Enteritis necrótica y Enteropatía proliferativa hemorrágica (Rowland y Lawson 1992).

#### **Adenomatosis intestinal**

Afecta a los 50 cm. finales del ileon, al ciego y al tercio proximal del colon, pudiendo presentarse más extendida, las lesiones proliferativas no aparecen antes de los 7 días post infección, generalmente tarda en aparecer 10 a 14 días y en algunas ocasiones pueden producirse a los 51 días post infección. El grado de lesión es variable y habitualmente tiene una relación directa con el grado del cuadro clínico. Al abrir la cavidad abdominal se observa que la serosa del ilion tiene un aspecto reticulado, con cierto grado de edema subseroso y mesentérico. El intestino tiene un diámetro mayor y está más rígido de lo normal por que la pared esta engrosada (Jones y col. 1993a).

Al observar la mucosa intestinal la encontramos adenomatosa, engrosada y con numerosos pliegues longitudinales y transversales, pueden tomar la forma de pólipos. Microscópicamente, se observan lesiones multifocales caracterizadas por proliferación de enterocitos inmaduros y la disminución de células caliciformes, la lesión progresa hacia un alargamiento de las criptas y las posteriores ramificaciones, con lo cual las vellosidades se acortan y la mucosa intestinal llega a aplanarse por completo (McOrist y col. 1993; Jasni y McOrist 1994). Los enterocitos forman

numerosas capas y en ellos se observan abundantes figuras de mitosis, con apariencia inmadura y el citoplasma basófilo, el núcleo en posición basal y carente de microvellosidades típicas del borde en cepillo, las criptas están rodeadas de macrófagos, neutrófilos y eosinófilos (Lomax y Glock 1982; Rowland y Lawson 1992).

#### **Ileitis regional**

Se reconoce por la contracción y rigidez a lo largo de la parte final del intestino delgado, de ahí el tradicional nombre de "intestinos de manguera" la porción afectada puede paralizarse, cuando se produce una úlcera se puede observar tejido de granulación con tejido sano, el tejido de granulación puede ser prominente, pero el distintivo más notable es la hipertrofia de la capa de músculo exterior. La enteritis necrótica y la ileitis regional son lesiones que raramente se detectan en el diagnóstico de laboratorio.

#### **Enteritis necrótica**

La complicación de la E.P.P. con infecciones secundarias da lugar a una necrosis coagulativa con marcado exudado caseoso, depósitos fibrinosos y células inflamatorias degenerativas que se superpone a la lesión adenomatosa inicial. Se presenta estrechamente asociada al engrosamiento de la arquitectura de la mucosa en lo profundo de las criptas. En casos de larga duración los tejidos de granulación se presentan prominentes (Rowland y Lawson 1992).

#### **E.P.P. hemorrágica aguda**

Generalmente afecta la parte terminal del ileon y colon, estos se presentan engrosados por el edema en la serosa, el lumen usualmente contienen uno o más coágulos de sangre mezclados con otros materiales. En el recto se encuentra contenido oscuro, mezcla de sangre y alimento digerido, la mucosa de la porción afectada del intestino muestra ligero daño, excepto por la marcada lesión hiperplásica, no observándose úlceras o erosiones. En el examen histológico hay una amplia degeneración y necrosis del epitelio adenomatoso de la mucosa con acumulación de detritus celulares en las criptas y hemorragia en el interior del epitelio proliferativo (Rowland y Lawson 1975; Taylor 1989; Rowland y Lawson 1992)

## 2.7 RESPUESTA INMUNE

La respuesta de anticuerpos parece ser muy débil, fundamentalmente Ig M y menor aún IgG, no siendo muy buenos indicadores de la presencia de infección, ellos se relacionan más con la presencia de lesiones. La multiplicación en enterocitos inmaduros sugiere una ventaja evolutiva importante a favor de la bacteria, pues estas células no expresan el complejo de histocompatibilidad mayor Clase II, lo que no sucede con enterocitos maduros, por lo tanto no actúan como presentadores de antígenos. Se ha encontrado acumulación de IgM en el interior de los enterocitos infectados, la respuesta inflamatoria local tras la infección es muy pequeña y apenas se detecta infiltración linfocitaria, que es algo más evidente en casos de la forma hemorrágica. En animales afectados se detectan linfocitos en sangre periférica que reaccionan con antígenos contra *Lawsonia intracellularis*, aunque es dudoso que tengan importancia en la protección de superficies mucosas como el intestino (Lawson y col. 1988).

Al determinarse el tipo de respuesta inmune celular que se produce en el intestino se halló gran acumulación de anticuerpos Ig A en los enterocitos infectados, con una respuesta celular débil consistente en linfocitos CD8<sup>+</sup> citolíticos supresores. En la forma hemorrágica la infiltración linfocitaria es algo mayor y en ella encontramos linfocitos CD8<sup>+</sup> y CD25<sup>+</sup> acompañados por linfocitos B productores tanto de IgA e IgG con una marcada lisis celular (McOrist y col. 1992). Se ha detectado la bacteria en ganglios linfáticos, mesentéricos y tonsilas en mayor frecuencia en correlación con la severidad de los signos (Jensen y col. 2000).

Al introducir cerdos seronegativos en granjas donde la infección es endémica aparecen niveles de IgG detectables en suero a las 6 semanas, alcanzándose niveles máximos entre las 18 y 24 semanas. En estas mismas granjas de infección endémica se encuentran lechones con altos niveles de IgG de origen calostrado (Love y Love 1979).

## 2.8 EPIDEMIOLOGÍA

Los primeros valores epidemiológicos que se reportaron fueron dados en relación a las lesiones halladas durante el beneficio en un rango del 0.7 al 2.0 % (Emsbo 1951; Rowland y Hutchings 1978; Kubo y col. 1984; Chistensen y Cullinane 1990). Wilson reportó tasas de 4.5 – 18.9% en 1986, en 1987 se reportó en granjas un 40% de casos de diarreas asociadas con ileitis (Winkelman 1987); Poiton en Australia

y USA encuentra alrededor de 30 – 40% de animales con lesiones compatibles con E.P.P. (Poiton 1989).

En Hungría se detectaron 27% de animales positivos a *Lawsonia intracellularis* tipo NCTC 12657, detectado por la técnica de PCR siendo el primer reporte de la presencia de esta bacteria en Hungría (Biksi y col. 1988). En Brazil mediante la prueba de PCR se obtuvieron resultados de 33.4% de prevalencia, como dato adicional se concluye que un 11% de los animales positivos no mostraron diarreas (Chiriboga y col. 1999). En Venezuela mediante la prueba de Inmunofluorescencia indirecta se encontraron prevalencias de 34.6% en madres, 10% en iniciación, 57% en crecimiento, 30% en finalización, y un promedio de 34.88% animales positivos (Hurtado y col. 1999).

Recientes estudios en España reportan porcentajes 3.3% de animales infectados 70% en engorde y 22% de granjas afectadas, en Dinamarca 30%, Estados Unidos y el Reino Unido indica un 20 a 40 % de granjas infectadas (Lanza y Pozo 1996; Moller y col. 1996; Bane y col. 1997; Smith 1997). Estudios realizados usando PCR y serología nos indican que en las granjas positivas el mayor número de infecciones se producen en áreas destinadas a animales post destete (cuando los cerdos tienen de 8 a 16 semanas (McOst 1996). Se han reportado datos de brotes que afectan 12 – 50 % de cerdos en una granja (Love y Love 1979; Lomax y Glock 1982; Holyoake y Cutler 1995).

La receptibilidad de los lechones a la infección también varía con la granja de origen, lo que podría indicar una receptibilidad variable a la infección en función del origen genético de estos, observándose mayor frecuencia en líneas de cerdos blancos, como Landrace y Large White y cruces comerciales de razas, siendo estos últimos los que exhiben una mayor susceptibilidad; aunque la enfermedad puede ser diagnosticada con frecuencia en Duroc y otras razas coloreadas (Gebhart y col. 1994).

La enteritis proliferativa porcina es raramente observada en animales aparentemente recuperados o en cerdos con más de dos años de edad. Se ha demostrado que las infecciones experimentales son más frecuentes en lechones menores de 3 a 4 semanas (Mapother y col 1987).

La estrecha adaptación de la *Lawsonia intracellularis* a vivir en el interior de las células epiteliales del cerdo, sin que presente sintomatología, sugiere que su introducción a una nueva piara se da generalmente por el ingreso de dichos animales, particularmente en hatos con estatus de salud alto (Smith 1997).

El costo adicional en alimentación que esta enfermedad puede ocasionar es de 0.8 libras por animal, las pérdidas por canal en malas condiciones acarrearán pérdidas

que van de 5 a 10 dólares por cerdo afectado, esto sin incluir las pérdidas por mortalidad (Winkelman 1987). Otros estudios sugieren que la ganancia de peso se reduce de 6 a 20 % en cerdos afectados y el incremento en requerimiento alimenticio va de 6 a 25 % más que un animal normal. Otra pérdida importante que trae esta enfermedad es el incremento en el tiempo de salida al mercado de los animales enfermos, se ha llegado a calcular un adicional de 14 días (Gogolewski y col. 1991; McOrist y col. 1996b, 1997).

## 2.9 DIAGNÓSTICO

La confirmación del diagnóstico clínico de E.P.P. se obtiene con la demostración de la presencia de *Lawsonia intracellularis*, lo que puede realizarse mediante la prueba de PCR usando primers específicos. La bacteria puede ser detectada si se encuentra en cantidades mayores de  $10^2$  microorganismos por gramo de heces. Esta prueba cuenta con 39% de sensibilidad y 100% de especificidad. Esta prueba tiene la ventaja de la facilidad de toma de muestra que consiste en pequeñas cantidades de heces, las cuales pueden ser guardadas a 4°C hasta el momento del procesamiento (Knittel 1998).

Los métodos serológicos incluyen ensayos de inmunofluorescencia, detectándose Ig-G que presenta 91% de sensibilidad y 97% de especificidad (Lawson y col. 1988; Knittel y col. 1997). La prueba de ELISA está basada en Ig G e Ig M (Holyoake y Cutler 1994). Para estos ensayos se usan extractos de bacterias de intestino o cultivados. La detección de anticuerpos está relacionada a la presencia de lesiones y/o exposición a la infección; pero no en todos los casos se induce una correcta seroconversión (Knittel y col. 1997).

El diagnóstico histopatológico requiere coloraciones tipo ácido resistente como Ziehl-Neelsen o Giemsa; se toman muestras de 5 a 20 cm de ileon y colon tomando la unión ileo-cecal (Love y Love 1979). La técnica modificada de impregnación argéntica de Warthin-Starry es usada como método de rutina (Young 1969). La identificación específica de la *Lawsonia intracellularis* en estas lesiones se puede lograr con tinción inmunohistoquímica de tejidos incluidos en parafina (Lawson y col. 1985; McOrist y col. 1987).

El cultivo de esta bacteria es obligatoriamente celular requiriéndose de líneas celulares como la IEC-18 enterocitos de rata o IPEC-J2 de enterocito de cerdo y la purificación adicional de la bacteria adicionando antibióticos para retardar el crecimiento de otras bacterias (Lawson y col. 1993; Mc Orist 1995a).

No existen pruebas tan sensibles que detecten la enfermedad en todos sus estadios (Moller y col. 1998; Knittel 1998).

Se debe realizar un correcto diagnóstico diferencial con enfermedades como salmonelosis, disentería, parasitosis intestinal, gastroenteritis transmisible del cerdo, úlcera gástrica, síndrome de colon hemorrágico, espiroquetas y torsión intestinal.

El chequeo en el centro de beneficio es muy impreciso. Las lesiones no son exclusivas de ileitis. Para el correcto diagnóstico de esta enfermedad ha sido necesario el desarrollo de métodos alternativos al cultivo tradicional en agar.

## **2.10 TRATAMIENTO**

Entre los antibióticos que se han probado para el tratamiento de la E.P.P., tenemos los macrólidos (erytromicina y tilosina), las tetraciclinas, las pleuromulinas (tiamulín) y las fluoroquinolonas; siendo las drogas más efectivas en vivo los macrólidos, lincosaminas, clortetraciclina y tiamulina (Gebhart y McOrist 1995; Mc Orist 1996b, 1997; Winkelman 1996). Los aminoglucósidos (neomicina, gentamicina, apramicina) resultaron inefectivos ya que la bacteria produjo resistencia. Otras drogas no efectivas son las penicilina, bacitracina, neomicina, virgyniamicin, salinomycin o olaquinox (Pointon 1989; Winkelman 1996).

Los diversos tratamientos encontrados dependen de los síntomas que se presenten y la situación de la granja, así tenemos en casos agudos los tratamientos pueden ser tiamulina 120ppm., tilosina 100ppm., clortetraciclina 400ppm. por 14 días en el alimento (Love y Love 1979), otro tipo de tratamiento es la aplicación de tilosina inyectable 400mg/kg. por tres días seguidos, continuando con 150-200mg/animal/día, otro tratamiento es valnemulin 75ppm. por 2 semanas. En los casos crónicos y asintomáticos se recomienda 100ppm de tilosina seguido de 40 ppm esto por 2 a 3 semanas. En granjas que presenten E.P.P. endémica se les puede administrar a cerdos en crecimiento y engorde como tratamientos de medicación continua: tiamulina 50 ppm, clortetraciclina 200 ppm, lincomicina 110 ppm o tilosina 100ppm; son tratamientos efectivos en estos casos, aunque las tasas de dosis reducidas o inadecuadas pueden llevar a una pérdida de las propiedades de performarse de estas drogas resultando en la recurrencia de la E.P.P. seguida al retiro del medicamento. El tratamiento sugerido para animales de reemplazo, estrés de transporte o expuestos a la enfermedad son: la tiamulina 120 ppm, tilosina 100ppm, lincomicina 110 ppm y clortetraciclina 400 ppm; esta medicación en el alimento por 14 a 21 días, también se

recomienda vainemulin 37.5 ppm/ton (Love y Love 1979; Fleck y Jones 1994; Beers 1984).

Se reportan mezclas que dan buenos resultados como Tiamulina acompañado de salinomicina, esto en proporciones de 30 a 100 ppm de tiamulina y 30 a 60 ppm de salinomicina, para casos de prevención y tratamiento respectivamente. Otra combinación tenemos Tylosin/sulfonamida con dimetridazole en proporción de 100 a 500 ppm en el alimento (Kyriakis 1994).

En hembras preñadas la medicación 1 a 2 semanas antes de la parición es probable que reduzca la transmisión a su progenie. Sólo el amonio cuaternario y compuestos con base de yodo lo destruyen (McOrist y Gebhard 1996)

## **2.11 E.P.P Y LOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO**

Los promotores de crecimiento de acción intracelular parecen controlar de manera eficaz la forma crónica de la ileitis. Así Winkelman recomienda la utilización de promotores durante todo el periodo de engorde para controlar la forma crónica y la aplicación de dosis terapéuticas en el pienso, agua o en inyecciones para tratar la forma aguda (Winkelman 1987). Boekman, recoge diversas recomendaciones de especialistas en porcinos, resaltando que las mejores garantías de éxito en el control de la enfermedad se obtiene administrando tilosina a dosis de promotor durante toda la vida del animal (Boekman1995).

## **2.12 CONTROL**

Al tratarse de una enfermedad infecciosa, son recomendables todas aquellas medidas encaminadas a mejorar las condiciones sanitarias de la granja para disminuir la presión de infección y dificultar la transmisión oro-fecal como el sistema todo dentro-todo fuera, extremar la limpieza, desinfección y minimizar el contacto de los cerdos con las heces, que se logra con mejores resultados con el sistema de enrejado. Cabe recordar el efecto desencadenante del estrés, conviniendo controlar todos aquellos factores que lo pudieran ocasionar.

Introducción de animales de reposición, especialmente de líneas genéticas nuevas, en granjas libres de la enfermedad, debe realizarse una cuarentena administrando pienso medicado durante, al menos, 30 días.



---

Las medidas higiénicas debe facilitar el control de la enfermedad, ésta y por motivos aún no muy claros, aparece con mayor frecuencia en explotaciones de elevado nivel sanitario (Winkelman 1996)

### III MATERIALES Y MÉTODOS

**3.1 Lugar de estudio:** Las muestras fueron tomadas de granjas porcinas tecnificadas pertenecientes al valle de Lima y Huaral. Para la elección de las granjas se consultó con la Sociedad Peruana de Porcicultores solicitándoseles la lista de granjas asociadas, tomándose, al azar 2 granjas de las zonas de Cieneguilla, Huaral y Lurín.

**3.2 Animales:** Los cerdos muestreados se, dividieron en tres grupos según edades; destete, engorde y hembras de reemplazo (37, 75 y 69 días respectivamente), los animales se eligieron al azar. Para el cálculo de la muestra se utilizó la fórmula de Cuantificación de prevalencia:

$$n = \frac{Z^2 p q}{d^2}$$

Donde:

p = prevalencia referencial 15% ( Veenhuizen y col. 1998)

q = 1 – p

z = valor tabular con 95% de confianza

d = error máximo admisible del 0.05

Para realizar el presente estudio se requería un mínimo de 196 muestras.

**3.3 Muestras:** Se tomaron muestras de sangre, mediante punción de la vena cava anterior, las que fueron guardadas en refrigeración hasta llegar al Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos donde se centrifugaron por 10 minutos para la separación del suero, después de lo cual se guardaron en congelación (-5 °C) hasta su posterior uso diagnóstico.

### **3.4 MATERIALES:**

#### **3.4.1 Materiales empleados para el muestreo.**

- Caja de Teknopor.
- Algodón.
- Alcohol.
- Aguja para Vacutainer.
- Frascos con vacío.
- Adaptador.
- Conservadores de temperatura

#### **3.4.2 Equipos y materiales empleados en el laboratorio.**

- Microscopio de fluorescencia con objetivos de 20 X , 40X y 100X.
- Lámpara de Fluorescencia.
- Cámara humidificadora.
- Tubos eppendorf.
- Refrigerador.
- Estufa.
- Incubador.
- Cámara de lavado.
- Pipeteador de 1 – 10 microlitros.
- Cámara fotográfica.
- Película de cámara de 1000 asas.
- Congeladora (-5°C).
- Congelador (-20°C).
- Viales eppendorf.
- Papel lente
- Tips.

### 3.4.3 Reactivos y materiales de diagnóstico

- Ig G anti-porcino marcado con isotiocianato de fluoresceína
- Buffer fosfato (PBS pH 7.2)
- Kit comercial (Ilei-test), el cual contiene
  - \* Láminas con co-cultivo semipurificado de *Lawsonia intracellularis* con 15 pozos por cada uno, mantenido a  $-20^{\circ}\text{C}$ .
  - \* Control positivo y negativo

## 3.5 METODOS:

### 3.5.1 Desarrollo de la prueba.

Los sueros mantenidos en congelación se colocaron al medio ambiente para su descongelación al igual que el conjugado de Ig G anti-porcino marcado con isotiocianato de fluoresceína, que también fue mantenido en congelación ( $-20^{\circ}\text{C}$  una vez descongelado se puede volver a repetir el procedimiento de congelado y descongelado por un número máximo de 10 veces y por un tiempo promedio de 1 mes).

Los sueros descongelados se diluyeron con PBS en proporción de 1:30, colocándose 5 microlitros de la dilución en los hoyos de la lámina del "Ilei - test"; en los primeros hoyos se colocaron los controles positivo y negativo, previamente diluidos en igual proporción que la usada en los sueros, identificándolos al igual que el resto de los hoyos.

Se colocaron las láminas en cámara húmeda y en refrigeración durante toda noche después de lo cual se lavaron las láminas con PBS por 5 minutos cuatro veces cambiando el PBS.

El conjugado se diluyó con el PBS en proporción de 1:30, de esta nueva dilución se adicionó 5 microlitros en todos los hoyos volviendo a colocar la lámina con el conjugado en cámara húmeda, pero por un periodo de 30 minutos y a estufa ( $37^{\circ}\text{C}$ ). Pasados los 30 minutos se procedió al lavado, anteriormente descrito.

Luego del proceso se procedió con la observación de las muestras mediante el microscopio de fluorescencia a 40X.

La prueba detecta positivos y negativos siendo positiva la muestra en la cual se evidencie mediante fluorescencia la bacteria, lo cual se produce por la adhesión de los

anticuerpos presentes en los sueros a los que a su vez se adhiere el anti-anticuerpo de cerdo conjugado con la fluoresceína.

### 3.5.2 Análisis de datos

#### Prevalencia de la prueba

El cálculo de la prevalencia de la prueba se realizó aplicando la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{Nº de animales positivos} \times 100}{n}$$

Donde :

P= prevalencia de la prueba

n= tamaño muestral

#### Prevalencia Corregida

Para el cálculo el verdadero valor de la prevalencia se empleó la siguiente fórmula:

$$P = \frac{P + E - 1}{S + E - 1}$$

Donde :

P = prevalencia corregida

P = prevalencia de la prueba

S = sensibilidad de la prueba

= 91% (Lawson y col. 1988; Knittel 1998)

E = especificidad de la prueba

= 97% (Lawson y col. 1988; Knittel 1998)

### Intervalo de Confianza

Se determinó los intervalos de confianza en los resultados obtenidos, usando la siguiente prueba:

$$I.C. = P \pm Z \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}}$$

Donde:

P = prevalencia

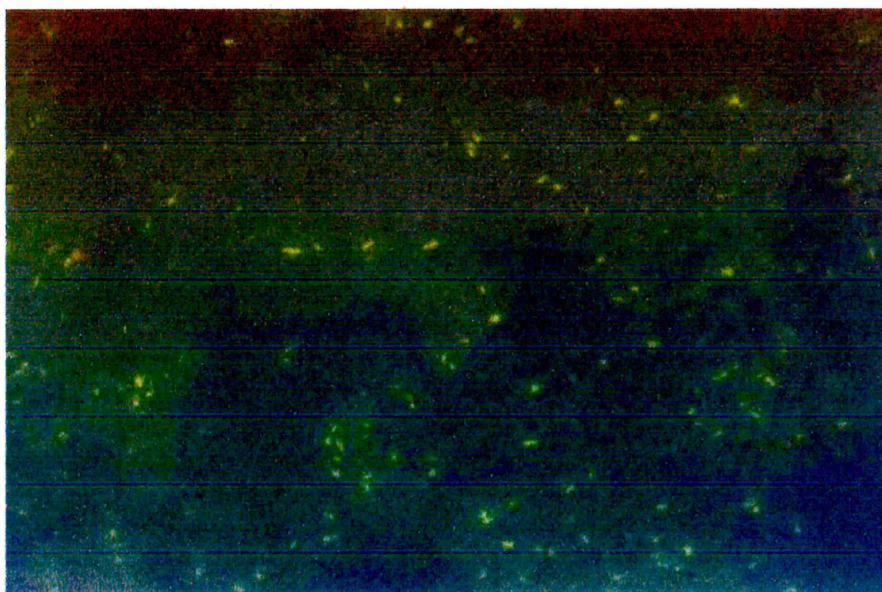
q = (1 -p)

Z = valor tabular con 95% de confianza

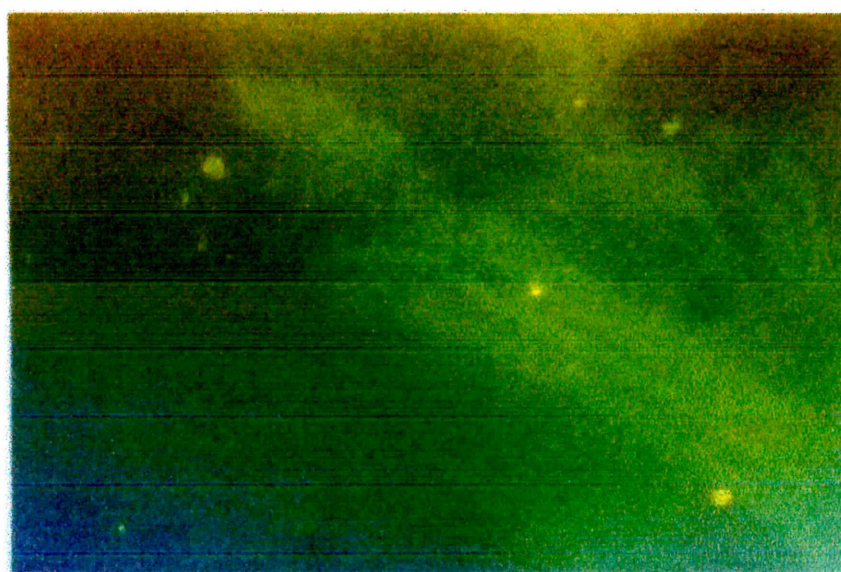
n = tamaño de muestra

### Odds Rattio

Mediante la prueba de regresión logística se determinó la procedencia de los sueros y el grupo etario como factores de riesgo en la presentación de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*.



**Figura 1: Reacción positiva**



**Figura 2: Reacción negativa**

Cuadro 1.- Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* obtenidas según zonas de muestreo.

Zona	Total de muestras	Positivos (n)	% $\pm$ I.C.*
Huaral	66	13	18.97 $\pm$ 9,21
Cieneguilla	69	29	44.3 $\pm$ 11,7
Lurín	72	31	45.5 $\pm$ 11,5
Total	197	73	38.7 $\pm$ 6,8

\* Prevalencia corregida según el porcentaje de sensibilidad 91% y especificidad 97%

Cuadro 2.- Proporción de muestras positivas a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* obtenidas según grupo etario.

Edad	Total de Muestras	Positivos (n)	% $\pm$ I.C.*
Destete	69	17	24.6 $\pm$ 10.1
Engorde	69	31	47.6 $\pm$ 11.7
Reemplazo	59	25	44.7 $\pm$ 12.7
Total	197	73	38.7 $\pm$ 6.8

\* Prevalencia corregida según el porcentaje de sensibilidad 91% y especificidad 97%



Cuadro 3.- Evaluación de la edad como factor de riesgo en la presentación de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*

	Odds Ratio	Intervalo de confianza
Destete	0	---
Engorde	1.78	0.94 – 3.33
Reemplazo	0.98	0.51- 1.9

Cuadro 4.- Evaluación de localización como factor de riesgo en la presentación de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*

	Odds Ratio	Intervalo de confianza
Huaral	0	---
Cieneguilla	2.68	1.19 – 5.82
Lurin	2.63	1.22 – 5.89

#### IV RESULTADOS

El presente estudio busca la detección de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* causante de la enteropatía proliferativa porcina, también conocida como Ileititis Porcina, mediante la prueba de Inmunofluorescencia indirecta, encontrándose los siguientes resultados.

De 197 sueros sometidos a la prueba 73 resultaron positivos (37,06%) a la presencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis*, sin embargo al corregir según la sensibilidad y especificidad de la prueba se obtiene una prevalencia corregida de  $38,7 \% \pm 6,8$ .

En el cuadro 1 se presenta la distribución de porcinos reactivos a anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* según su procedencia, observándose menor porcentaje de animales reactivos en la provincia de Huaral respecto a Cieneguilla y Lurín.

En el cuadro 2 se aprecian los resultados obtenidos por edades en los que encontramos menor porcentaje de animales positivos en destete en comparación con las edades de engorde y reemplazo.

Al evaluar la procedencia y grupo etario como factores de riesgo se encontró menor riesgo de presentación de anticuerpos en la zona de Huaral. El grupo etario no influye como factor de riesgo (cuadros 3 y 4) .

## V DISCUSIÓN

La enteropatía proliferativa porcina producida por *Lawsonia intracellularis* presenta signos clínicos que se relacionan con otros agentes etiológicos, lo que dificulta una correcta diferenciación en granja. Cuando se realizan las necropsias se debe observar meticulosamente el ileon y colon afectados, ya que algunas lesiones pueden llevarnos a sospechar de este problema.

En nuestro país no existen reportes científicos que demuestren la presencia de *Lawsonia intracellularis*, sin embargo, los porcicultores conocen ya hace mucho tiempo esta enfermedad por sus signos clínicos llamándola ileitis porcina. En este primer estudio encontramos que la presencia de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* se observa en una prevalencia de  $38.7 \pm 6,8 \%$  en cerdos proveniente de granjas tecnificadas del valle de Lima y Huaral, esta prevalencia fue corregida por efecto de la sensibilidad y especificidad de la prueba. En razón de no existir vacunas contra esta bacteria, el hallazgo de dicha prevalencia en animales enfrentados a la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) nos indica una previa exposición de estos a la bacteria; confirmando la presencia de infección en nuestro medio. Por otro lado, un título positivo de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* no tiene ningún valor por sí solo; su presencia no logra diferenciar si un animal está activamente infectado o es inmune; tampoco indica la susceptibilidad a la enfermedad o si el animal está eliminando la bacteria; ni puede predecirse si el cerdo desarrollaría la enfermedad posteriormente.

En trabajos realizados en otros países se han reconocido prevalencias por granja que fluctúan de 3.3% en España (Lanza y Pozo 1996) a 40 % en el Reino Unido (Smith y McOrist 1997). En países sudamericanos, como Brasil y Venezuela los resultados son 34,4% y 33,8% respectivamente (Hurtado y col. 1999; Chiriboga y col. 1999); prevalencia similar a la determinada en el presente trabajo. En el trabajo

realizado en Venezuela se utilizó la misma prueba diagnóstico (IFI), detectándose los anticuerpos presentes en poblaciones porcinas de granjas tecnificadas.

La prueba de IFI usada en el presente trabajo fue el kit comercial "ILEI – TEST"; la prueba cuenta con varias ventajas como su alta sensibilidad y especificidad - 91% y 97% respectivamente (Lawson y col. 1988; Knittel 1998). Otra prueba serológica desarrollada para la detección de anticuerpos es la prueba de ELISA que presenta menor sensibilidad y especificidad y además no se ha desarrollado a nivel comercial (Holyoake y Cutler 1994). El método de PCR es bastante confiable contando con 39% de sensibilidad y 100% de especificidad, siendo su principal inconveniente el alto costo por muestra (Knittel y col. 1997).

El alojarse la bacteria en el interior de enterocitos inmaduros conlleva a la baja presentación de anticuerpos, siendo este un importante inconveniente para su diagnóstico serológico (Lawson y col. 1988), ante este inconveniente el "ILEI – TEST" propone una toma de muestra seriada dejando 2 a 3 semanas entre cada toma de muestra (la presentación de anticuerpos es normalmente entre los 14 a 21 días de exposición) se aconseja el muestreo de varios animales del mismo corral al que pertenezca el o los animales sospechosos.

Por edades los resultados fueron los siguientes en destete 24.6% en hembras de reemplazo 44.7% y en animales en engorde 47.6% animales con 37, 69 y 75 días de nacidos respectivamente, encontrándose la menor prevalencia en destete y la mayor en engorde no hallándose riesgo por edad en la presentación de anticuerpos, estos datos los podemos relacionar con los reportados en Venezuela y España en los que se encontró 57% y 70% de animales positivos en engorde respectivamente, siendo los mayores porcentaje por edad (Chiriboga y col. 1999; Lanza y Pozo 1996).

La protección que los anticuerpos calostrales proveen al cerdo dura de los 21 a 28 días de edad (Maporther y col. 1987; Winkelman 1987) y si contamos que la presentación de lesiones demora de 14 a 21 días, podemos encontrar que los animales destetados a los que se tomó muestras podrían estar presentando anticuerpos no calostrales y detectables por la prueba de IFI. La baja proporción de muestras que resultaron positivas en la edad de destete, puede relacionarse a la alta frecuencia de casos en fase sub clínica de porcinos al destete y primeras fases de crecimiento reportado por Lawson y col. 1992.

En las zonas muestreadas que fueron Lurín, Cieneguilla y Huaral los resultados fueron 31, 29 y 13% respectivamente, hallándose menor riesgo de presentación en Huaral. Las condiciones de manejo y los animales en cada una de las

zonas son bastante similares, sospechándose que el menor riesgo de presentación pudiera deberse al clima, encontrándose que en Huaral la temperatura durante el día es más constante que en las otras dos zonas, siendo los cambios de temperatura un factor que propicia formas de presentación más graves de la enfermedad, llevando a lesiones que estimulan la presencia de anticuerpos detectables por la prueba usada (McOrist y Gebhart 1996). La similitud de las prevalencias encontradas en Lurin y Cieneguilla puede deberse a la cercanía y similitud geográfica que ellas presentan.

No se sabe a ciencia cierta como ingresó esta enfermedad a nuestro país o si siempre se ha encontrado en nuestros cerdos, ya que se sospecha que esta bacteria es ubicua de los cerdos y hay indicios que existe una transmisión entre roedores y cerdos (Gebhart y col. 1995), pero cabe anotar que al tenerse relaciones comerciales con Estados Unidos y países Europeos para la adquisición de cerdos puede haber sido una puerta de entrada, ya que en esos países se ha detectado con anterioridad y si tomamos en cuenta que es una enfermedad que se mantiene latente en granjas de alto nivel sanitario que son las ideales para la compra de animales reproductores se estaría incrementando la sospecha de que esta importación sería una vía de acceso de esta enfermedad. No olvidemos que animales que pasan del año de edad presentan inmunidad, por lo que no se podría sospechar ni detectar la presencia de *Lawsonia intracellularis* en dichos animales (Winkelman 1987).

En conclusión, mediante el presente trabajo se ha llegado a detectar anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* causante de la enteritis proliferativa porcina (ileitis) en granjas porcinas tecnificadas de los valles de Lima y Huaral, trabajo que da comienzo a el entendimiento de esta enfermedad en nuestro medio.

Siendo las diarreas una de las principales causas de disminución de peso y de desaprovechamiento del alimento, es muy importante continuar investigando esta enfermedad para así poder establecer las curvas de prevalencia en los diferentes periodos de crecimiento, para así determinar los periodos de mayor riesgo de presentación y de transmisión, como el impacto de esta enfermedad en la economía de la industria porcina.

## VI CONCLUSIONES

Mediante los resultados obtenidos en el desarrollo de la técnica de Inmunofluorescencia indirecta utilizada para la detección de anticuerpos contra *Lawsonia intraellularis* aplicada en el presente trabajo se concluye lo siguiente:

1. Se detectaron anticuerpos contra la bacteria en proporción de  $38.7 \pm 6.8\%$  (73/197) en suero de cerdos provenientes del valle de Lima y Huaral.
2. Según su procedencia se detectaron anticuerpos en proporción de 45.5% en la zona de Lurin, 44.3% en Cieneguilla y 18.96% en Huaral.
3. Por edades se detectó  $24.6 \pm 10.1\%$  provienen del destete  $47.6 \pm 11.7\%$  de engorde y  $44.7 \pm 12.7\%$  de reemplazo.
4. La procedencia representa un factor de riesgo en la presentación de anticuerpos hallándose menor riesgo de presentación en las muestras provenientes de Huaral con respecto a Cieneguilla y Lurin. El grupo etario no representa riesgo.

Apéndice.- Distribución de los porcinos muestreados de acuerdo a su procedencia y grupos etarios.

Zona	Edades	Total de muestras	Positivas (n)	% $\pm$ I.C.
Huaral	Destete	21	3	12.8 $\pm$ 14
	Engorde	21	8	40 $\pm$ 21
	Reemplazo	12	2	15.5 $\pm$ 20
Cieneguilla	Destete	24	3	11 $\pm$ 12
	Engorde	24	13	58 $\pm$ 19
	Reemplazo	23	13	60.8 $\pm$ 2
Lurin	Destete	24	11	49 $\pm$ 20
	Engorde	24	7	30 $\pm$ 18
	Reemplazo	24	10	44 $\pm$ 19.9
Total		197	73	38.7 $\pm$ 6.8

## IX BIBLIOGRAFÍA CITADA

- 1 **APP.** 2000. Beneficio de ganado Porcino en Lima Metropolitana. Base de datos, Asociación Peruana de Porcicultores. Lima
- 2 **Bane, D.; C.J. Gebhart; I. Gardner.** 1997. Epidemiology of porcine proliferative enteropathy: A case control study. *Proc AASP* 27:429-431.
- 3 **Biester, H.E. y L.H. Schwarte.** 1931. Intestinal adenoma in swine. *Am. J. Pathol.* 7:175 – 185.
- 4 **Beers, P.T.** 1984. Studies on Porcine Adenomatosis with Particular Reference to Proliferative Haemorrhagic Enteropathy. *Proc AASP* 27:429 – 431.
- 5 **Biksi, I.; P. Kacskovics; M. Mándoki; J. Iván; I. Horváth-Papp; G. Makay y F. Vetési.** 1988. Detection of *Lawsonia intracellularis* in hungarian swine herds by polymerase chain reaction. *Acta Veterinaria Hungarica* 46 (4), pp. 415–420.
- 6 **Boeckman; S.** 1995. Chasing down porcine proliferative enteropathy. *Swine Practitioner.* 10:20-23.
- 7 **Chiriboga, A.E.; W.V. Guimaraes; M.C. Vanetti; E.F. y Araújo.** 1999. Detection of *Lawsonia intracellularis* in faeces of swine from in the main producing regions in Brazil. *Can J Microbiol Mar*, 45(3):230-4.
- 8 **Cooper, D.M.** 1996. Proliferative enteritis in the hamster, horse, deer, and ostrich: detection and characterization of *Lawsonia intracellularis*. M.Sc. Thesis, Univ. Minesota.
- 9 **Chistensen; N. y L.C. Cullinane.** 1990. Monitoring the heath of pigs in New Zeland abattoirs. *NZ Vet J* 38:136-141.



- 10 **Drolet, R. D. Larochelle y C.J. Gebhart. 1996.** Proliferative enteritis associated with *Lawsonia intracellularis* (Ileal symbiontn intracellularis) in white- tailed deer. J Vet Diagn Invest 8:250 – 253.
- 11 **Duhamel, G.E. y E.B. Wheeldon. 1982.** Intestinal adenomatosis in a foal. Vet Phatol 19: 447 – 450.
- 12 **Emsbo, P. 1951.** Terminal or regional ileitis in swine. Nord Vet Med 3:1-28.
- 13 **Eriksen, K y T. Landesberk. 1985.** Intestinal adenomatosis in the blue fox. Nord Vet Med. 37:254 – 255.
- 14 **Fleck M.K. y G.F. Jones. 1994.** Porcine proliferative enteropathy outbreak and treatment using tylosina. Porc Int Congr Pig Vet Soc 13:345.
- 15 **Fox J. G. y G.H.K Lawson. 1988.** Campylobacter – like omega intracellular antigen in proliferative colitis in ferrets. Lab Anim Sci 38 :34 – 36.
- 16 **Frisk, CS y J.E. Wagner 1977.** Experimental hamster enteritis: An electron microscopic study. Am J Vet Res 38:1861 – 1868.
- 17 **Gebhart C.J y S.A. Mc Orist.1995.** Hamster challenge model for evaluatin effectiveness of chlortetracycline in prevention/control of porcine proliferative enteropathy. Proc AASP Annu Meet:93-97.
- 18 **Gebhart, C.J; G.E. Ward; K. Chan; H.J. Kurtz. 1983.** Campylobacter hyointestinalis (new especies) isolated from swine with proliferative ileitis . Am J Vet Res 45:361 – 367.
- 19 **Gebhart, C.J.; G.F. Lin; G.E. Ward y M.P. Murtaugh. 1990.** Species-specific DNA probes for *Campylobacter* species isolated from pig with proliferative enteritis. Vet Microbiol 24:367-379.
- 20 **Gebhart, C.J.; G.F. Lin; S. McOrist; G.H.K. Lawson y M.P. Murtaugh. 1991.** Cloned DNA probes specific for the intracellular *Campylobacter* –like organism of porcine proliferative enteritis. J Clin Microbiol 29:1011-1015.
- 21 **Gebhart, C.J; S.M. Barn y S. Mc. Orist . 1993.** Ileal Simbiotic Intracellularis, and Obligate intracellular bacterium of Porcine Intestines sowing a relationship to Desulfovibrio species. Int J Syst Bacteriol. 43:533-538.
- 22 **Gebhart, C.; P. Harris; H. Ruef; L. Baum; D. Nemechek y G. Winkelmann. 1994.** Rouhd table discussion swine proliferative enteropathy part 1,2 and3. Agri – Practice 14(8); 16(1).
- 23 **Gogolewski, R.P.; R.W. Cook; E.S. Batterham. 1991.** Suboptimal growth associated with porcine intestinal adenomatosis in pig in a nutritional studies. Aust Vet J 68:406-408.

- 24 **Holyoake, P.K; R.S. Cutler y R.S. Caple. 1994.** Prevalence of P.E. on pigs farms in Australia. Aust Vet.5, 71:418 – 422.
- 25 **Holyoake, P.K y R.S. Cutler. 1995.** Outbreaks of proliferative haemorrhagic enteropathy on two pig farm. Aust Vet J 72:253-256.
- 26 **Hurtado, M.E.; R. Maerstro; M. Rolo y L. Palencia. 1999.** Evaluaciones serológicas preliminares para detección de anticuerpos contra *Lawsonia intracellularis* en cerdos de granjas venezolanas. Rev. Porc. Venez. 21: 14-15.
- 27 **Jasni, S. y S. McOrist. 1994.** Experimentally induced proliferative enteritis in hamster: an ultrastructural study. Res Vet Sci, 56:186 – 192.
- 28 **Jensen, T.K.; K. Moller, R. Lindecrona, S.E. Jorsal. 2000.** Detection of *Lawsonia intracellularis* in the tonsils of pigs with proliferative enteropathy. Res Vet Sci Feb 68:1 23-6
- 29 **Joens, L.A.; S. Nibbelink y R.D.Glock. 1997.** Introduction of gross and microscopic lesions of porcine proliferative enteritis by *Lawsonia intracellularis*. Am J Vet Res 58, 1125-1131.
- 30 **Jones, G.F. 1993.** Use of a DNA probe to detect the intracellular organism of proliferative enteritis in swine feces. Am. J. Vet. Res. 54:1585-1590.
- 31 **Jones, G.F.; G.E. Ward; M.P. Murtaugh; R. Rose; C.J. Gebhart. 1993a.** Relationship between ileal symbiont *intracellularis* and porcine proliferative enteritis. Infect Immun 61:5237-5244.
- 32 **Kalinowski, J. 1996.** Tendencias del Mercado Nacional de Porcinos. Memorias IV. Seminario Internacional de Porcicultura. Lima-Perú. Pg.122
- 33 **Knittel, J. P; D.I. Larson; D.L.Harris; M.B. Roof y S. Mc Orist. 1996.** United States isolates of *Lawsonia intracellularis* from porcine proliferative enteropathy resemble European isolates. Swine HealthProd. 4:119-122.
- 34 **Knittel, J.P.; M. Roof; K. Schwartz; D.M. Jordan; D.L. Harris y S. Mc Orist. 1997.** Diagnosis of porcine proliferative enteritis. Comp Cont Educ Pract Vet 19 (suppl):S26-S29,S35.
- 35 **Knittel J.P. 1998.** New Serology test available. Am Jou Vet Res 56(6) 722-726.
- 36 **Kyriakis, C.C. 1994.** The effect of tiamulin (TIA) in the feed alone or in combination with salinomycin (SAL) for growing/fattening pigs. Proc 13th IPVS Congress:114.
- 37 **Kubo M; T. Ohya y H. Watase. 1984.** Proliferative hemorrhagic enteropathy detected at an abattoir in Kagoshima. Jap J Vet Sci 46:413-417.
- 38 **Lanza I. y J. Pozo. 1996.** Epidemiología de la ileitis porcina. Porci Vet 32:42-49.

- 39 **Lawson G.HK y A.C. Rowland; 1974.** Intestinal adenomatosis in the pig: A bacteriological study. *Res Vet Sci* 17:331-336.
- 40 **Lawson, G.HK; A.C. Rowland y N. Mac Intyre. 1985.** Demonstration of a new intracellularis antigen in porcine intestinal adenomatosis and hamster proliferative ileitis. *Vet Microbiol* 10:303-313.
- 41 **Lawson, GHK; S. McOrist; A.C. Rowland; L. Roberts y E. McCartney. 1988.** Serological diagnosis of the porcine proliferative enteropathies: Implications for etiology and epidemiology. *Vet Rec* 122:554-557.
- 42 **Lawson G. H. y A.C. Rowland, 1992.** Porcine proliferative enteropathies. *Diseases of swine*, ed 7. Ames. IA, Iowa State University Press, 560 – 569.
- 43 **Lawson, G.HK; S. Mc. Orist; J. Sabri y R.A. Mackie. 1993.** Intracellular bacteria en porcine proliferative enteropathy: Cultivation and maintenance in vitro. *J Clin Microbiol* 31:1136-1142.
- 44 **Lawson G.HK; R.A. Mackie y D.G.E. Smith. 1995.** Intracellular multiplication of ileal symbiont intracellularis depends on host cell function and actin polymerization. *Vet Microbiol* 45:339-350.
- 45 **Love R.J y D.N. Love 1979.** Control of proliferative haemorrhagic enteropathy in pigs. *Vet Rec* 100:473.
- 46 **Lomax L.G. y R.D. Glock. 1982.** Naturally occurring porcine proliferative enteritis: Pathologic and bacteriologic findings. *Am J Vet Res* 43:1608-1614.
- 47 **Maporther M.E.; L.A. Joens y R.D. Glock. 1987.** Experimental reproduction of porcine proliferative enteritis. *Vet Rec* 121:533-536.
- 48 **Mc Orist S.; R. Boid y I. Mc. Connell. 1987.** Monoclonal antibodies to intracellular *Campylobacter* –like of the porcine proliferative enteropathies. *Vet Rec* 121:421 – 422.
- 49 **McOrist, S. y G.H.K. Lawson. 1989a.** Reproduction of proliferative enteritis in gnotobiotic piglets. *Res Vet Sci* 46:27-33.
- 50 **McOrist S. y G.H.K. Lawson.1989b.** Failure to demonstrate *Campylobacter*-like organisms of the proliferative enteropathies in pigs excreting *Campylobacter* s.p. *Vet Rec.* 124:41.
- 51 **McOrist, S.; N. MacIntyre; C.R. Stokes y G.H.K. Lawson. 1992.** Immunocytological responses in the porcine proliferative enteropathies. *Infect Immun* 60: 4184-4191.
- 52 **McOrist, S; S. Jasni; R.Mackie; N.MacIntyre, N. Neff y G. Lawson 1993.** Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiotic intracellularis. *Infection and Immunity* 61:10, 4286-4292.

- 53 **McOrist S, C.J. Gebhart; G.H.K. Lawson.1994.** Etiology of Proliferative Enteropathy (ileitis). Proc IPVS Meet: 155.
- 54 **McOrist,S; R. Mackie; N. Neet y G.H.K. Lawson. 1994a.** Synergism of ileal symbiont intracellularis and gut bacteria in the reproduction in porcine proliferative enteropathy. Vet Rec 134: 331-332.
- 55 **McOrist, S.; C.J. Gebhart; R. Boid y S.M. Bars. 1995.** Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov,sp.nov, the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. Int J Syst Bacteriol 45 (4:820-5).
- 56 **McOrist,S; S Jasni; R. Mackie; H.M Berschneider; A. Rowland y G.H.K. Lawson. 1995a.** Entry and release of the bacterium ileal symbiont intracellularis in cultured enterocytes. Res Vet Sci 59:255-260.
- 57 **McOrist, S y C.J. Gebhart.1996.** Swine diseases. Ed. Iowa State Univ. Press. 6ta ed. 521- 133
- 58 **McOrist, S; S.H. Smith; M.F. Shearn; M.M. Carr y D.J. Miller. 1996a.** Treatment and prevention of de la porcine proliferative enteropathy whith oral tiamulin. Vet Ret.139 (25):615-8.
- 59 **McOrist S. L. Roberts; S. Jasini; A.C. Rowland; G.H. Lawson, C.J. Gebhart y B. Bosworth. 1996b.** Developed and resolvig lesions in porcine proliferative enteropathy: possible pathogenetic mechanims. J Comp Pathol 115(1):35-4.
- 60 **McOrist S.; J. Morgan.; M.F. Veenhuizen.; K. Lawrence. Y H.W. Kroger. 1997.** Oral Administration of tylosin phosphatefor treatment and prevention of proliferative enteropathy in pig. Am J Vet Res 58:136-139.
- 61 **Moller K.; T.K. Jensen y S.E. Jorsal. 1996.** Bacteriological examination and PCR analisys of feces from growing pigs originating from herds with and without diarrhea. Proc Int Congr Pig Vet Soc 14:325.
- 62 **Moller K.; T.K. Jensen; S.E. Jorsal; T.D. Lese y B. Carstensen. 1998.** Detection of *Lawsonia intracellularis*, *Serpulina hyodysenteriae*, weakly beta-haemolytic intestinal spirochaetes, *Salmonella enteritidis*, and haemolytic *Escherichia coli*. from swine herds with and without diarroeas among growing pig. Vet Microbiol Apr 30;62 (1):59-72
- 63 **MINAG-OIA. 1995.** Producción Pecuaria 1995. Oficina de Información Agraria.
- 64 **MINAG-OIA. 1999.** Producción Pecuaria 1999. Oficina de Información Agraria.
- 65 **Moxley RA y G.E. Duhamel 1999.** Comparative pathology of bacterial enteric diseases of swine. Adv Exp Med Biol 473 83-101.

- 66 **Pointon, A.M. 1989.** *Campylobacter* associated intestinal pathology in pigs. Aust Vet J 66:90-91.
- 67 **Roberts, L.; A.C. Rowland y G.H.K. Lawson. 1977.** Experimental reproduction of porcine intestinal adenomatosis and necrotic enteritis. Vet Rec 104:366-368.
- 68 **Roberts, L.; G.H.K. Lawson; A.C. Rowland y A.H. Laing. 1979.** Porcine intestinal adenomatosis and its detection in a closed pig herd. Vet Rec 100:12-13.
- 69 **Rowland, A. C. y Lawson G.H.K 1974.** Intestinal Adenomatosis in the pig: Immunofluorescent and electron microscopic studies. Res Vet Sci 17:323 – 330
- 70 **Rowland, A.C. y G.H.K. Lawson 1975.** Porcine intestinal adenomatosis: A possible relationship with necrotic enteritis, regional ileitis and proliferative haemorrhagic enteropathy. Vet. Rec. 97:178-180.
- 71 **Rowland, A.C. y D.A. Hutchings. 1978.** Necrotic enteritis and regional ileitis in pigs at slaughter. Vet Rec 103:338-339.
- 72 **Rowland, A.L. y G.H.K. Lawson 1992.** Porcine proliferative enteropathies. Diseases of Swine, ed 7. Ames, IA, Iowa State University, pp 560-569.
- 73 **Schultz, P.A. 1995.** Ileitis an old disease with newly recognized etiology and cost-effective control methods. Large Animal Vet. Jan-Feb:6-9.
- 74 **Smith, S.H. 1997.** Epidemiological Features of Porcine Proliferative Enteropathies. Ph.D. diss, Univ Edimburgo.
- 75 **Smith, S. H. y S. Mc. Orist. 1997.** Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. Res Vet Sci 62:6 – 10.
- 76 **Taylor, D.J. 1989.** Pig Diseases. ed 5, Foxton, Cambridge, The Burlington Press pp 114 – 118.
- 77 **Vanderbergher, J; A. Verheyen; S. Lauwers y K. Geboes. 1985.** Spontaneous adenocarcinoma of the ascending colon in Wistar rats: the intracytoplasmic presence of a campylobacter-like bacterium. J Comp. Pathol. 95:45 – 55.
- 78 **Veenhuizen, M.F.; T.E. Elan y N. Soensken. 1998.** The potential economic impact of porcine proliferative enteropathy on the use swine industry. 15<sup>o</sup> Congreso IPVS, Vol 2, pag. 64.
- 79 **Ward, G.E y N.L. Wikelman. 1990.** Recognizing the three forms of proliferative enteritis in swine. Vet Med. 85 (2) : 197 – 203.
- 80 **Wass, W.M. 1986.** Terminal ileitis (porcine proliferative enteritis, hemorrhagic bowel syndrome). Current Veterinary Therapy 2. Food Animal Practice. WB Saunders Co. p.764.

- 81 **Williams, N.M.; N. R. Harrison y C.J. Gebhart. 1996.** Proliferative enteropathy in a foal caused by *Lawsonia intracellularis* - like bacterium. J Vet Diagn Invest 8:254 – 256.
- 82 **Wilson, T.M.; K. Chang; C.J. Gephart. 1986.** Porcine proliferative enteritis: serological, microbiological and pathological studies from three field epizootics. Can J Vet Res 50:217-220.
- 83 **Winkelman, N.L. 1987.** Proliferative enteritis – ileitis : information and control. Proc. Annu AASP Meet. : 225 – 234.
- 84 **Winkelman, N.L. 1996.** Ileitis; an update. Food Anim Med. Management. 18:519-527.
- 85 **Young, B.J. 1969.** A reliable method for demonstrating spirochaetes in tissue sections. J Med Lab Technol 26:248-252.